

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЛОШАДЕЙ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ ДНК

Е.И. Приловская¹, магистрант, Е.С. Чебуранова², аспирант,

Научный руководитель – Н.А. Глинская¹, к.с.-х.н.

¹Полесский государственный университет

²Гродненский государственный аграрный университет

Изучение генетического полиморфизма пород лошадей имеет большое значение для поддержания разнообразия в популяциях, улучшения селекционной работы и определения их происхождения.

Резкое снижение численности поголовья лошадей в XX веке не могло не отразиться на уровне генетического разнообразия, в связи с чем, необходимо использовать современные подходы для оценки и поддержания высокого уровня генетического разнообразия для сохранения пород во избежание неблагоприятных последствий инбридинга и эффекта «бутылочного горлышка». Одним из наиболее эффективных подходов оценки генетического разнообразия популяций является использование молекулярных маркеров ДНК. Наиболее информативными для популяционно-генетических исследований являются мультилокусные ДНК маркеры, позволяющие одновременно изучать большое число локусов. В связи с чем, целью наших исследований являлось изучение генетического разнообразия популяции лошадей, разводимых в СПК «Прогресс-Вертилишки» Гродненской области, по 17 микросателлитным локусам (n=50).

Исследования были проведены в научно-исследовательской лаборатории «Прикладной и фундаментальной биотехнологии» на базе УО «Полесский государственный университет», а также в научно-исследовательской лаборатории ДНК-технологий на базе УО «Гродненский государственный аграрный университет».

ДНК экстрагировали из проб буккального эпителия животного перхлоратным методом с двойной очисткой (по методу Зиновьевой). Концентрацию ДНК оценивали спектроскопическим методом на спектрофотометре Implen P360. Оптимальная концентрация геномной ДНК, необходимой для проведения мультиплексной реакции, составляла 1-10 нг/мкл. Нативность ДНК определяли проведением электрофореза в 1% агарозном геле при напряжении 100V 20–30 мин по отсутствию «шлейфа» фрагментов ДНК и интенсивности свечения бромистого этидия в УФ-свете. Амплификацию проводили с использованием реакционной смеси объемом 15 мкл, включающей следующие компоненты: буфер – 2,5 мкл; дНТП – 4,0 мкл, Taq-полимераза – 0,5 мкл, деионизированная вода – 3 мкл, смесь праймеров – 4,0 мкл, геномная ДНК – 1-10 нг/мкл [1].

Генотипирование лошадей (n=50), разводимых в СПК «Прогресс-Вертилишки» Гродненской области, проводили по 17 микросателлитным локусам, рекомендованных Международным обществом по генетике животных (ISAG) с использованием набора для генотипирования лошадей «StockMarks for Horses» на генетическом анализаторе 3500 фирмы Applied Biosystems.

Образцы, перед постановкой в секвенатор, денатурировали в течение 5 мин при 95⁰С, с последующим охлаждением при 4⁰С. Затем производилась непосредственная загрузка образцов в генетический анализатор 3500, позволяющего проводить генетическую экспертизу в автоматическом режиме с высокой степенью точности, руководствуясь протоколом. Далее проводился анализ результатов с помощью программного обеспечения GeenMapper 5.

В ходе анализа аллелофонда исследованных пород лошадей по 17 микросателлитов ДНК были получены данные, которые характеризуют полиморфизм каждого из маркеров (таблица).

Таблица – Характеристика полиморфизма изученных локусов микросателлитов ДНК изученной популяции лошадей

Микросателлитный локус	Ae	He	Ho
АНТ4	3,651	0,711	0,759
АНТ5	3,980	0,731	0,712
ASB17	4,739	0,774	0,777
ASB2	5,131	0,787	0,722
ASB23	4,362	0,764	0,765
CA425	3,252	0,646	0,597
HMS1	2,990	0,655	0,663
HMS2	3,449	0,688	0,678
HMS3	3,867	0,721	0,609
HMS6	2,863	0,628	0,695
HMS7	3,912	0,725	0,755
HTG10	4,449	0,768	0,806
HTG4	2,609	0,592	0,660
HTG6	2,968	0,642	0,679
HTG7	2,769	0,616	0,693
LEX 3	4,381	0,765	0,575
VHL 20	4,740	0,780	0,818
В среднем	3,771	0,706	0,704

В 17-ти изученных микросателлитных локусах идентифицировано от 6 до 15 аллелей. Средний показатель уровня полиморфности локуса составил 3,771 единицы. Именно поэтому все локусы были разделены на две группы. В первую группу вошли локусы, значение уровня полиморфности которых ниже среднего уровня – это локусы HTG4, HTG7, HMS6, HMS1, HTG6, АНТ4, СА425, HMS2. Минимальным значением характеризовался локус HTG4 – 2,609. Вторую группу составили локусы, имеющие значение уровня полиморфности превышающие средние показатели: ASB2, ASB17, ASB23, HTG10, LEX3, VHL20. Максимальным уровнем полиморфности обладал локус ASB2 – 5,131.

Анализ генетического разнообразия исследованной популяции показал, что для 17 микросателлитных локусов средний показатель наблюдаемой (0,704) и ожидаемой (0,706) гетерозиготности практически равны. При этом, наибольшим уровнем наблюдаемой (Ho) гетерозиготности характеризовался локус VHL 20, а ожидаемой (He) гетерозиготности – локус ASB2 (0,818 и 0,787 соответственно), в то время как наименьшим наблюдаемым уровнем гетерозиготности характеризовался локус LEX 3 (0,575), а наименьшим ожидаемым уровнем гетерозиготности локус HTG4 (0,592).

Таким образом, высокий показатель гетерозиготности позволяет считать данные полиморфные локусы генетическими маркерами, пригодными для оценки генетического разнообразия животных и достоверности их происхождения с высокой точностью, характеристики аллельного разнообразия и частот генотипов.

Список использованных источников

1. Генетическая характеристика созданных типов скота бурой швицкой и сычевской пород с использованием полиморфизма микросателлитных локусов / Н.И. Стрекозов [и др.] // С.-х. биология. Сер. Биология животных. – 2009. – № 2. – С. 10–15.
2. Зайцева, М.А. Использование микросателлитных маркеров ДНК в контроле происхождения лошадей / М.А. Зайцева // Вклад молодых ученых в развитие аграрной науки 21 века : материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, Рязань, 2–3 марта, 2004 г. / М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, Ряз. гос. с.-х. акад. им. П.А. Костычева. – Рязань, 2004. – С. 105–107.

3. Коновалова, Е.Н. Характеристика симментальского скота различного происхождения с использованием ДНК-микросателлитов / Е.Н. Коновалова, В.И. Сельцов, Н.А. Зиновьева // Зоотехния. – 2006. – № 8. – С. 6–9.